

비늘버섯의 成分에 관한 研究(제 2 보)

朴婉熙·金炳珏*·魯一協

淑明女子大學校 藥學大學·*서울大學校 藥學大學

Studies on the Components of *Pholiota squarrosa*(II)

Wan-Hee Park, Byong Kak Kim* and Ihl-Hyeob Ro

College of Pharmacy, Sook-Myung Women's University, Seoul 140 and

*College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea

Abstract: To investigate antitumor components in Korean higher fungi, the carpophores of *Pholiota squarrosa* belonging to the family Strophariaceae were collected and extracted with hot water. A protein-bound polysaccharide fraction was obtained by adding ethanol to the extract and by dialyzing through Visking tube. The fraction was examined for antitumor activity against sarcoma 180 implanted in mice. It showed an inhibition ratio of 78.7% at the dose of 20mg/kg/day. The tumor in two of the ten mice was completely regressed. The chemical analysis of the antitumor fraction by Anthrone and Lowry-Folin methods showed that it consisted of 42% polysaccharide and 55% protein. The enzyme fraction of the carpophores showed no proteolytic activity on casein.

Key words: Basidiomycetss, Strophariaceae, *Pholiota squarrosa*, Protein-bound polysaccharide, Antitumor activity, Enzyme, Proteolytic activity, Carpophores.

韓國產擔子菌類에 대한 研究가 活潑해 짐에 따라 현재 담자균류 600여종이 分類되었으며 그 營養 成分 및 藥效 成分이 밝혀지고 있다.

擔子菌類인 버섯에서 毒性和 副作用이 적은 抗癌物質을 찾으려는 研究가 進行되고 있으며 이러한 버섯에서 얻어지는 蛋白性 多糖類가 優秀한 抗癌作用이 있다는 것은 널리 알려져 있다.

한국산 擔子菌類에 抗癌作用을 가진 成分이 있음을 1979년 金 등이 最初로 구름버섯, 느타리버섯, 표고버섯에서 분리 보고하였다. 같은 해에 朴 등은 표고버섯의 菌絲를 液內培養하여 抗癌成分을 얻었고, 1980년 閔 등은 깃버섯아재비와 메꽃버섯의 抗癌效果에 대한 報告가 있으며, 1980년 沈 등은 구름버섯의 抗癌成分의 免疫促進效果에 대하여 研究 發表한 바 있다. 1982년 著者는 비늘버섯에서 高分子物質을 分離하여 그 成分의 蛋白質 및 多糖類 含量을 分析하였으며 또 그 抗癌作用에 대하여 일부를 보고 한바 있다.

그리고 擔子菌類로 부터 酵素를 抽出하려는 研究가

활발히 進行되고 있다. 1957년 Kilroe-Smith는 *Hydnum henningsii*에서 cellulase를 分離하였으며 1972년 Hashimoto는 *Pholiota nameko*에서 carboxymethylcellulase를 분리 보고하였다. 같은 해에 川은 擔子菌類를 培養하여 培養 여액에 대하여 그 酵素 活性을 研究한 바 있다.

한국산 野生 비늘버섯에서 보다 有效하고 毒性이 적은 抗癌成分을 찾는 研究의 일환으로써 비늘버섯의 抗癌效果에 대해 實驗하였다.

버섯에는 여러 酵素가 存在하므로 비늘버섯의 子實體를 황산암모늄으로 鹽析하여 얻은 沈澱에 대하여 단백질분해효소의 有無를 檢討하였다.

저자들은 위의 실험에서 약간의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

實驗材料 및 方法

實驗材料

1981年 9~10월에 光陵一帶 젓나무 밑에서 채집한 독청버섯과(Strophariaceae)에 속하는 비늘버섯 *Pholiota squarrosa* (Fr.) Quél.의 子實體를 赤外燈下에서 乾燥하여 사용했다.

實驗 方法

1. 抗癌實驗

A) 抽出 및 分離

비늘버섯의 子實體 100g을 물로 抽出하여 짚은 갈색분말 1.02g을 얻었다.

B) 實驗 動物

體重 25~30g의 숫컷 ICR 마우스를 사용하였다.

C) 腫瘍細胞

마우스의 腹腔內에 sarcoma 180 細胞 현탁액 0.1ml (1×10^7 cells/ml)을 移植하였다.

D) 實驗液 調製

비늘버섯 菌絲體 抽出物인 짚은 褐色 粉末 200mg를 生理食鹽水 20ml에 녹였다. 對照로는 生理食鹽水를 사용하였다.

E) 動物 實驗

實驗溶液을 마우스에 2mg/kg, 20mg/kg, 50mg/kg 그리고 對照群에는 生理食鹽水를 注射하여 抗癌作用의 지표로 사용하는 移植動物의 阻止百分率(inhibition ratio: 이후 I.R.로 약함)은 다음과 같은 式에 의해 구했다.

$$I.R. = \frac{Cw - Tw}{Cw} \times 100$$

Cw : 대조군의 평균종양중량

Tw : 처치군의 평균종양중량

F) 多糖類의 含量 分析(Anthrone 反應)

G) 蛋白質의 含量 分析(Lowry-Folin 反應)

2. Protease 實驗

A) 효소 抽出

건조한 비늘버섯 100g에 증류수 3배를 가하여 Waring blender로 마쇄하여 24시간 추출하였다. 마포로 여과하고 여액을 다시 30분간(12000×g) 원심분리한 다음 이 上澄液에 유산암몬을 가하여 沈澱시켰다. 이 침전을 Visking tube에 넣고 투석하였다. 이 透析한 침전을 pH 7.8의 암모니아수에 용해하여 여과하고 그 여액을 -65°C에서 냉동건조하여 짚은 갈색침전 0.94g을 얻었다(Fig. 1).

B) 효소용액 調製

효소추출에서 얻은 갈색 침전을 pH 4.0의 MacIlvaine 완충액에 녹여 1% 시료용액으로 하였다.

C) 표준 효소용액 調製

Material (100g)

Homogenization with water
Extraction with 3 volume of water
Filtration with gauze

Filtrate

Centrifugation

Supernatant

Fractionation by 2/3 saturation with (NH₄)₂SO₄

Precipitate

Dialysis with Visking tube against water
Centrifugation

Precipitate

Extraction with pH 7.8 NH₄OH aqua
Filtration

Filtrate

Lyophilization at -65°C

Sample 0.94g (dark brown powder)

Fig. 1. Extraction of enzyme from *Pholiota squarrosa*.

pepsin을 pH 4.0의 MacIlvaine 완충액에 용해하여 1% 표준 효소용액으로 하였다.

D) Casein 基質溶液 調製

Casein 1g에 H₂O 10ml 및 0.2N-NaOH 10ml를 가해 용해하고 H₂O 60ml를 추가하여 완전히 용해한다. 이것을 0.1N-HCl로 pH 7.8이 되도록 조절하고 H₂O를 가하여 100ml로 하였다. 사용시 조절하였다.

E) 배지의 調製

상기 기질용액 50ml에 agar 0.5g을 가하고 10분간 끓여 그 10ml를 petri dish에 부어 10분후에 사용하였다.

F) Protease 活性

상기 배지에 cup을 세우고 효소용액 0.2ml를 주입하고 37°C에서 24시간 작용시킨후 용해된 직경을 측정하였다. 대조로 pH 4.0의 MacIlvaine 완충액을 사용하였다.

結果 및 考察

抗癌 作用

비늘버섯 자체체로부터 抽出한 高分子 成分이 平均 體重 25g의 마우스의 sarcoma 180에 대한 抗癌效果는 5mg/kg, 20mg/kg, 50mg/kg 투여시에 각각 54.9%, 98.9% 및 70.5%의 腫瘍阻止率을 나타내었다. sarcoma 180의 완전 퇴행을 나타낸 마우스의 마리수를 보면 각각 한마리, 2마리, 한마리였으며 그 중에서 20mg/kg 투여군이 가장 높은 퇴행율을 보였다.

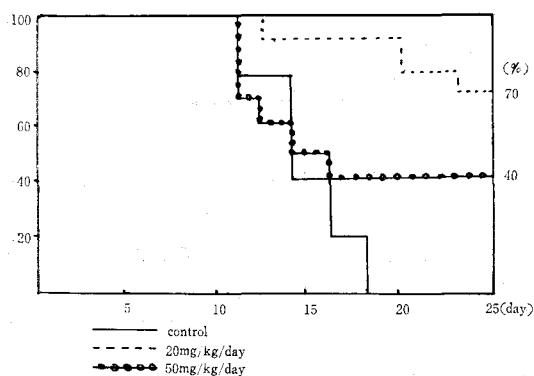


Fig. 2. Effects of the antitumor fraction on the life-span of mice implanted with sarcoma 180.

또한 이 단백질 다당류가 마우스의 life-span에 미치는 영향은 Fig. 2에 표시하였다. 이 그림에서 20mg/kg 투여군을 25일간 관찰하였을 때 70% 생존하였다. 이것으로 보아 20mg/kg 투여군이 가장 우수한 성적을 나타내었다.

Protease 檢索

비늘버섯의 효소추출물을 casein을 基質로 하여 cup method로 그 protease유무를 실험하여 본 결과 protease활성 나타내지 않았다.

結 論

비늘버섯의 단백질 다당류는 마우스의 sarcoma 180에 대하여 높은 항암작용을 나타내었으며 20mg/kg 투여군의 阻止백분율은 78.5%이고 이 투여군의 마우스

의 life-span에 미치는 영향을 25일간 관찰하였을 때 70%의 높은 生存率을 보였다.

비늘버섯의 효소추출물은 protease활성을 나타내지 않았다.

감사의 말씀

끝으로 항암실험을 하는데 많은 도움을 주신 서울대 약대 미생물약품화학교실 정경수 조교와 강창을 조교께 깊은 감사를 드리는 바이다.

References

- Hashimoto, K. (1972): *Toyo Shokuhin Kogyo Tanki Daigaku, Toyo Shokuhin Kenkyusho Kenkyu Hokusho* 10, 163 (Japan).
- Kim, B.K., Park, E.K., and Shim, M.J. (1979): *Arch. Pharm. Res.* 2, 145.
- Kilroe-Smith, T.A. (1957): *J. S. African Chem. Inst.* 10, 29.
- Mim, H.K., Choi, E.C., and Kim, B.K. (1980): *Kor. J. Mycol.* 8, 13.
- Park, E.K., Choi, E.C., and Kim, B.K. (1979): *Arch. Pharm. Res.* 2, 153.
- Shim, M.J. (1980): *Kor. J. Mycol.* 8, 115.
- 朴婉熙(1975): *韓國營養學會誌* 8, 1.
- 朴婉熙(1982): *藥學會誌* 26, 185.
- 川合正允(1972): *日本國特許廳, 特許公報, 特許出願公告*, 昭 47-34953.

<Received January 11, 1983>